



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(12)

PATENTE DE INVENCION

(11) Número de publicación: **2 095 193**

(21) Número de solicitud: 9501444

(51) Int. Cl.⁶: C12N 1/20

C02F 3/34

B09C 1/10

//(C12N 1/20

C12R 1/36

RECEIVED

MAY 14 2002
TC 1700

B1

(22) Fecha de presentación: **18.07.95**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **01.02.97**

Fecha de concesión: **04.08.97**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:
06.06.97

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **01.09.97**

(45) Fecha de publicación del folleto de patente:
01.09.97

(73) Titular/es: Universidad Politécnica de Madrid
Avda. Ramiro de Maeztu, 7
Madrid, ES
Universidad Complutense de Madrid

(72) Inventor/es: Alonso Sanz, Ramón;
Gómez y Miguel, Vicente;
Martín Fernández, Margarita;
Ferrer Muñoz, Estrella;
Fernández Alvarez, Javier y
Mengs González, Gerardo

(74) Agente: **No consta**

(54) Título: **Utilización de las cepas bacterianas del género *pseudomonas* PCH3 y GCH1 para la bio-
restauración de suelos y purificación de aguas, contaminadas por herbicidas del grupo de
las acetamidas.**

(57) Resumen:

La utilización de las cepas bacterianas del género *Pseudomonas* PCH3 y GCH1 para la biorestauración de suelos y purificación de aguas, contaminadas por herbicidas del grupo de las acetamidas, constituye un método biotecnológico susceptible de ser empleado en la restauración de suelos y aguas contaminadas con acetamidas y derivados aromáticos, procedentes de la actividad agrícola y/o industrial. Estas cepas bacterianas han demostrado su capacidad para degradar estos compuestos orgánicos. Su utilización en técnicas de biorestauración "in situ", al ser inoculadas en el suelo contaminado, o "ex situ", inmovilizadas sobre soportes sólidos, como biocatalizadores de un reactor, constituyen una alternativa, o bien una etapa final, a los métodos físicoquímicos que se emplean actualmente.

ES 2 095 193 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el artº 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. C/Panamá, 1 - 28036 Madrid

REIVINDICACIONES

1. *Pseudomonas PCH3* y *Pseudomonas GCH1*, depositadas en la CET con los números de acceso CECT 4586 y CECT 4587 respectivamente, con capacidad de utilizar acetanilida y derivados como fuente de carbono bajo condiciones aerobias.

2. Procedimiento para la eliminación biológica de acetanilida, derivados N-sustituidos de la misma, o de la sustitución del H en el grupo fenil de la misma, o de la sustitución del H en el carbono 2, así como acetamidas o derivados N-sustituidos de la anilina, obtenidos en la degradación (catabolismo) de los compuestos anteriormente citados, presentes en suelos o en aguas, **caracterizado** porque se utilizan los compuestos citados como sustratos para la biotransformación, mediante al menos una de las cepas del género *Pseudomonas* citadas en la reivindicación 1.

3. Procedimiento según la reivindicación 2, **caracterizado** porque comprende las siguientes etapas:

- 15 - añadir los nutrientes necesarios para conseguir la optimización de la biotransformación.
- inocular el suelo o el agua contaminada a tratar con un cultivo de al menos uno de los microorganismos citados en la reivindicación 1, hasta conseguir las desaparición del contaminante.
- 20 - controlar los efectos sobre los ecosistemas naturales.

4. Procedimiento según la reivindicación 2, **caracterizado** porque al menos uno de los microorganismos citados en la reivindicación 1 son inmovilizados sobre un soporte sólido, de naturaleza cerámica, sintética u orgánica.

25 5. Procedimiento según las reivindicaciones 2 y 4, **caracterizado** porque se aporta el microorganismo inmovilizado, como biocatalizador, a un biorreactor, regulándose las condiciones que optimizan el proceso de transformación de los compuestos contaminantes.

30

35

40

45

50

55

60

ES 2 095 193 B1

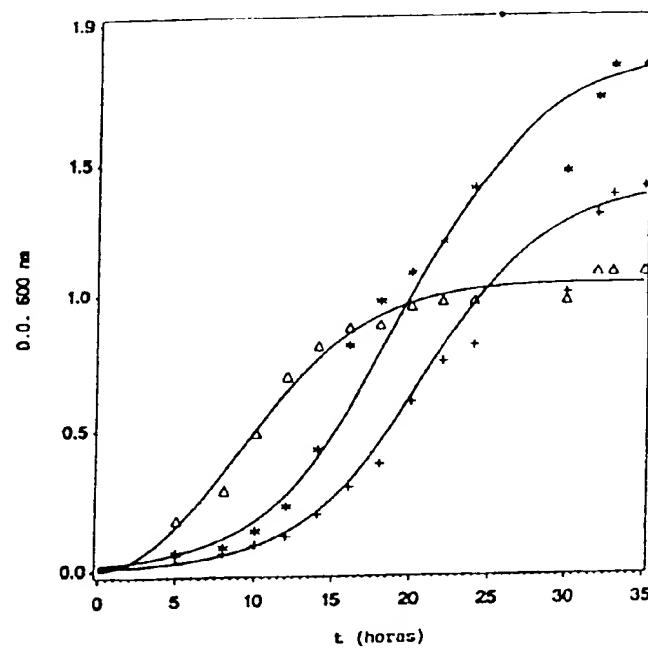


Fig.1

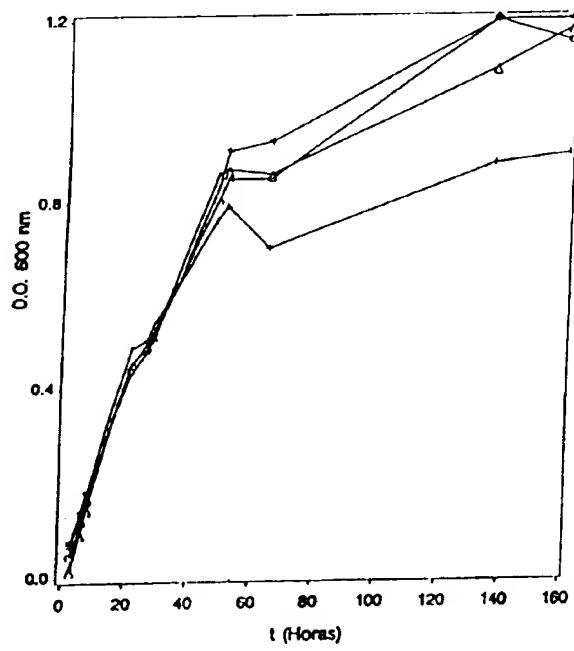


Fig.2

ES 2 095 193 B1

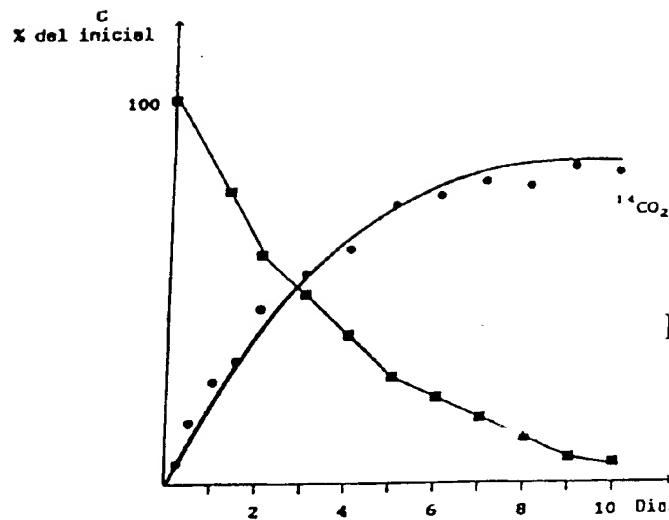


Fig.3

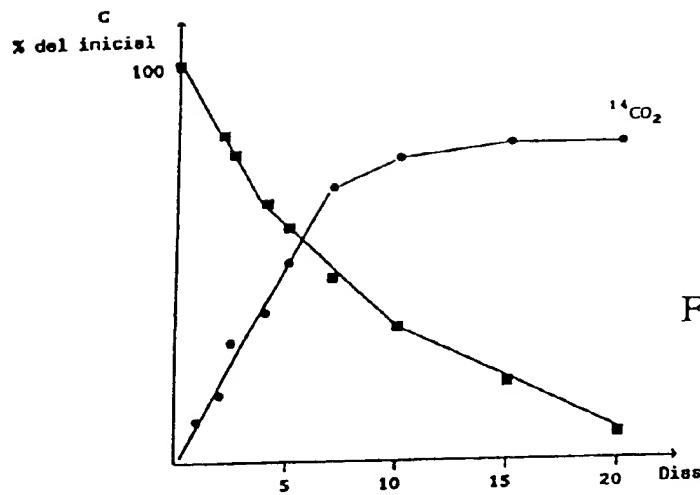


Fig.4

ES 2 095 193 B1

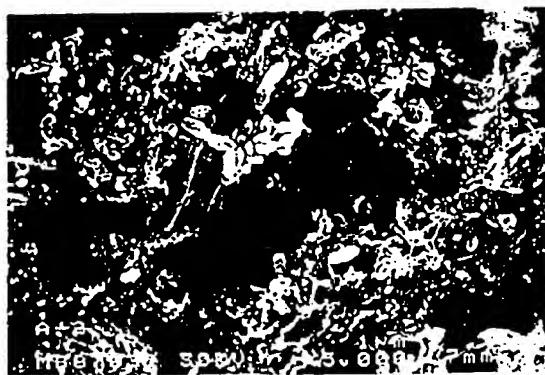


Fig.5



Fig.6

19.- SPANISH OFFICE OF PATENTS AND TRADE MARKS, SPAIN

11.- Publication number : **2 095 193**

21.- Application number: 9501444

51.- Intl. Cl.6: C12N 1/20
C02F 3/34
B09C 1/10
//(C12N 1/20
C12R 1:38)

12.- **PATENT OF INVENTION** **B1**

22.- Date of filing: **18.07.95**

43.- Date of publication of the application: **01.02.97**

Date of grant: **04.08.97**

Date of modification to the claims: **06.06.97**

45.- Date of notification of grant: **01.09.97**

45.- Date of publication of patent booklet: **01.09.97**

73.- Titleholder(s): **Universidad Politécnica de Madrid,
Avenida Ramiro de Maeztu, number 7,
Madrid, ES
Universidad Complutense de Madrid**

72.- Inventor(s):**Alonso Sanz, Ramón;
Gómez y Miguel, Vicente;
Martín Fernández, Margarita;
Ferrer Muñoz, Estrella;
Fernández Alvarez, Javier and
Mengs González, Gerardo**

74.- Agent: **Does not appear.**

54.- Utilisation of bacterial stock of the genus *Pseudomonas* PCH3 and GCH1 for bioremediation of soils and purification of waters, contaminated by herbicides of the acetamides group.

57.- Utilisation of bacterial stock of the genus *Pseudomonas* PCH3 and GCH1 for bioremediation of soils and purification of waters, contaminated by herbicides of the acetamides group, constitutes a biotechnological method capable of being employed in the restoration of soils and waters contaminated with acetamides and aromatic derivatives, coming from agricultural and/or industrial activity. These bacterial stocks have demonstrated their capacity to degrade these organic compounds. Their

employment in "in situ" bioremediation techniques, on being inoculated into contaminated ground, or "ex situ", immobilised on solid supports, like biocatalysts of a reactor, constitute an alternative, or a final stage, to the physio-chemical methods currently employed.

CLAIMS

1. *Pseudomonas* PCH3 and *Pseudomonas* GCH1, deposited in the CET with the access numbers CECT 4586 and CECT 4587 respectively, with the capacity for using acetanilide and derivatives as a source of carbon under aerobic conditions.
2. Method for the biological suppression of acetanilide, N substituted derivatives thereof, or of the substitution of the H in the phenyl group thereof, or the substitution of the H in the carbon 2, and also acetamides or N substituted derivatives of the aniline, obtained in the degradation (catabolism) of the aforementioned compounds, present in soils or in waters, characterised in that the compounds mentioned are used as substrates for biotransformation, by means of at least one of the stocks of the genus *Pseudomonas* mentioned in claim 1.
3. Method in accordance with claim 1, characterised in that it comprises the following steps:
 - add the nutrients necessary to achieve the optimisation of the biotransformation.
 - Inoculate the contaminated soil or water to be treated with a culture of at least one of the microorganisms mentioned in claim 1, until the disappearance of the contaminant is achieved.
 - Monitor the effects on the natural ecosystems.
4. Method in accordance with claim 2, characterised in that at least one of the microorganisms mentioned in claim 1 are immobilised on a solid support, ceramic, synthetic or organic in nature.
5. Method in accordance with claims 2 and 4, characterised in that the immobilised microorganism, as biocatalyst is provided to a bioreactor, the conditions being regulated that optimise the transformation process of the contaminating compounds.

Fig. 1 t (Hours)

Fig. 2 t (Hours)

Fig. 3 % of initial / Days

Fig. 4 % of initial / Days
1.